

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK

(Direktor: Prof. Dr. W. Zöllner)

DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

ÜBER DIE VERÄNDERUNGEN DES THROMBOZYTENSYSTEMS
BEI PATIENTEN UNTER
PHENPROCOUMON-ANTIKOAGULANTIEN-DAUER THERAPIE
WÄHREND AZAPROPAZON-, AZAPROPAZON-PHENPROBAMAT- UND
AZAPROPAZON-PROPOXYPHEN-MEDIKATION



Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilian - Universität zu München

vorgelegt von
Cornelia Neppert
aus Bad Überkingen

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Berichterstatter: Prof. Dr. N. Goossens

Tag der mündlichen Prüfung: 17. 12. 1975



MEINEN ELTERN

INHALT

I. VORWORT 1

II. EINLEITUNG 2

III. DIE ELTERN 3

IV. DIE ELTERN 4

V. DIE ELTERN 5

VI. DIE ELTERN 6

VII. DIE ELTERN 7

VIII. DIE ELTERN 8

IX. DIE ELTERN 9

X. DIE ELTERN 10

XI. DIE ELTERN 11

XII. DIE ELTERN 12

XIII. DIE ELTERN 13

XIV. DIE ELTERN 14

XV. DIE ELTERN 15

XVI. DIE ELTERN 16

XVII. DIE ELTERN 17

XVIII. DIE ELTERN 18

XIX. DIE ELTERN 19

XX. DIE ELTERN 20

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
I E I N L E I T U N G	1
II E X P E R I M E N T E L L E R T E I L	4
a V E R S U C H S P L A N	4
b V E R S U C H S D U R C H F Ü H R U N G	5
c A B W E I C H U N G E N D E S V E R S U C H S	7
d V E R W E N D E T E M E T H O D E N	10
III E R G E B N I S S E	14
a E I G E N E E R G E B N I S S E	14
b S T A T I S T I K	25
IV D I S K U S S I O N	30
V Z U S A M M E N F A S S U N G	32
VI L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	34

E I N L E I T U N G

Prolixan^R 300, Azapropazon, ein hochwirksames, nicht steroides Antiphlogistikum vom Wirkstofftyp (3-Dimethyl-amino-7-methyl-1, 2-(n-propylmalonyl)-1, 2-dihydro-1,2, 4-benzotriazin-dihydrat) wurde in letzter Zeit hauptsächlich in die Therapie der Rheumatologie eingeführt, wobei es besonders seine gute antiinflammatorische Wirkung am Ort der Entstehung durch Stabilisierung von Lysosomen, Albuminen und Globulinen zeigte.

Es ist von einigen Antirheumatika - z.B. Salicylaten, Phenylbutazon - bekannt, daß sie in weiterem Sinne auf das Blutgerinnungssystem, vor allem auch auf den Thrombozytenstoffwechsel, verändernd einwirken. Unter ihrer therapeutischen Anwendung kann demnach eine bestehende Blutungsneigung verstärkt werden, z.B. bei vorgeschädigtem Gerinnungssystem bei hämorrhagischer Diathese und vor allem bei älteren Patienten unter gerinnungshemmender Therapie der Coumarinderivate. Wir untersuchten deshalb in einem kontrollierten Einfachblindversuch den Einfluß des Antirheumatikums Prolixan^R auf die Blutgerinnung von Patienten, die unter Phenprocoumon-(Marcumar^R)-Antikoagulantien-Dauertherapie standen.

Insbesondere wollten wir herausfinden, ob eine erhöhte Blutungsneigung durch Potenzierung des Marcumareffektes hervorgerufen würde und ob zusätzlich eine Veränderung der Thrombozytenzahl und -Funktion erfolgen würde.

Im Rahmen einer größeren Studie befaßten wir uns in dieser Arbeit mit der Wirkung des Azapropazons (Prolixan^R) auf die Thrombocyten anhand von Thrombocytentesten, da die Thrombocyten in der Pathogenese der Gefäßkrankheiten durch thrombotische Auflagerungen, die durch Thrombocytenhaftung und Aggregation (BREDDIN, 5) entstehen, eine bedeutende Rolle spielen.

In der Literatur werden verschiedene Plättchenfunktionsteste beschrieben, so von LEEKSMA und COHEN (22) zur Beobachtung der Plättchenüberlebenszeit, von SHARP (31) zur Bestimmung der Plättchenklumpungszeit, MURPHY (25) und MUSTARD (26) fanden eine Methode zur Messung des Plättchenumsatzes.

Wir benutzten die Tests nach BREDDIN und BAUKE (7) zur Messung der Aggregation (PAT) und zur Bestimmung der Adhäsivität (PAI).

Man versteht unter Adhäsivität das Haften der Thrombocyten an blutfremden Oberflächen, sowie Zellmaterialien, verletzten oder morphologisch intakten Gefäßwänden in vivo (BOUNAMEAUX, 4).

Bei dem Begriff Aggregation muß man die reversible Aggregation streng von der irreversiblen trennen.

Reversible Aggregation ist das Aneinanderlegen von Plättchen ohne Strukturverlust und ohne Funktions- einbuße. Reversibel aggregierte Thrombocyten lassen sich in vitro z.B. durch Schütteln wieder voneinander trennen.

Unter irreversibler Aggregation versteht man das Zusammenballen der Thrombocyten, das mit Verlust der normalen Plättchenfunktion einhergeht (BREDDIN, 5).

FONIO beschrieb das irreversible Aneinanderhaften der Plättchen als eine Verflechtung ihrer einzelnen Pseudopodien.

Im Vollblut und auch im Citratblut beruht die beschleunigte Thrombocytenaggregation auf der Freisetzung von ADP (Adenosindiphosphat) aus den Erythrocyten. Dieses ADP wird von HELEM (zit.in 5) als Faktor R bezeichnet. Außer ADP induzieren auch andere Diphosphate wie Cordycipin-Diphosphat und 1-N-oxyl-Adenosin-Diphosphat eine Aggregation (GAARDER und LALAND, 15). Dieses ADP entsteht aus dem zerfallenden ATP (Adenosintriphosphat) der Erythrocyten wie dem ATP der Plättchen, wenn diese in visköse Metamorphose übergehen (BORN, 3).

Nach BREDDIN (5) soll diese Aggregationstendenz durch Vermehrung eines plättchenaggregierenden Plasmafaktors bedingt sein. Er vermutet, daß es womöglich ein Fibrinderivat ist, das unter Mitwirkung eines Proteins, von ihm als "Aggregin" bezeichnet, im Plasma entsteht. Von MITCHELL und SHARP (24) wurde beobachtet, daß auch 5-Hydroxytryptamin, Katecholamine und Adenosintetraphosphat (CLAYTON, 9) zu Aggregation führen.

Dieses durch ADP, Katecholamine, Thrombin oder ähnliche Substanzen herbeigeführte Phänomen der Thrombocytenaggregation kann durch Zusatz verschiedenster Substanzen in vitro gehemmt werden, z.B. Phenoxybenzamin, Adenosin (CROSS et al, 9).

Eine Aggregation tritt auch bei bestimmten Konzentrationen von Antikoagulantien (Heparin und Coumarinderivate) auf. Bei therapeutischen Dosen von Phenprocoumon beobachtete BREDDIN nur einen geringen hemmenden Einfluß (7).

EXPERIMENTELLER TEIL

VERSUCHSPLAN

Es sollten 4 Versuchsgruppen zu je 12 Patienten getestet werden, die mindestens 3 Monate unter Marcumar-Dauertherapie standen. Die Zuordnung der Patienten zu den 4 Versuchsgruppen erfolgte streng zufällig nach einem vom Biometriker aufgestellten Zufallscode. Die Patienten treten in der Reihenfolge, in der sie zur Behandlung erscheinen, in den Versuch ein und erhalten jeweils die ihnen durch den Zufallscode bestimmte Medikation.

Die Abpackung der Testmedikation erfolgte nach einem Zufallscode. Der Prüfer erhält die Testmedikation in Behältern mit fortlaufender Nummer. Die verschiedenen Testmedikationen waren äusserlich für die Untersucher etwas unterscheidbar, für den Patienten nicht. Statistisch genau genommen handelt es sich also um einen Einfachblindversuch.

Die Versuchsgruppen werden getestet mit der Medikation:

- | | |
|---|------------------|
| 1. Gruppe A Prolixan ^R | Dragee 300mg |
| 2. Gruppe B Prolixan ^R -Phenprobamat | Dragee 200/200mg |
| 3. Gruppe C Prolixan ^R -Propoxyphen | Dragee 200/40mg |
| 4. Gruppe D Placebo | Dragee |

Jeder Patient erhält 120 Dragees.

Für die zur Verfügung gestellten Testpräparate und Placebos und die Abpackung nach dem Zufallscode danken wir der Firma SIEGFRIED AG, ZOFINGEN.

Für jeden Patientenversuch waren 6 Wochen vorgesehen mit insgesamt 4 Messzeitpunkten:

- | | |
|-------------------------------------|----------------|
| (1) vor Medikationsbeginn | |
| (2) 2 Wochen nach Medikationsbeginn | } Medikation |
| (3) 4 Wochen nach Medikationsbeginn | |
| (4) 6 Wochen nach Medikationsbeginn | Auslassversuch |

Die Testmedikation wurde jedoch lediglich in den ersten vier Wochen des Versuches gegeben.

Zusätzliche Behandlung mit Pyrazolderivaten und allen übrigen die Antikoagulantientherapie beeinflussenden Medikamente sind nicht zugelassen.

Nebenmedikationen, wie z.B. Digitalis sind nur zugelassen, wenn sie regelmässig eingenommen werden, dies gilt auch für eine Reihe anderer Medikamente wie Vitamine (ausser Vitamin K), deren Einfluß auf die Antikoagulantientherapie nicht eindeutig bekannt ist.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Statt der vorgesehenen Anzahl von 4 mal 12 Patienten konnten nur insgesamt 42 Patienten in den Versuch einbezogen werden, die sich wie folgt aufteilen:

- | | | |
|----|-----------|---------|
| 1. | Gruppe A: | 10 Pat. |
| 2. | Gruppe B: | 12 Pat. |
| 3. | Gruppe C: | 12 Pat. |
| 4. | Gruppe D: | 8 Pat. |

Eine Übersicht über die anamnestischen Daten, Geschlecht, Alter und Gewicht, sowie die zu Versuchsbeginn wöchentlich verabreichte Marcumar^R-Dosis gibt Tabelle 1 wieder.

Tabelle 1

VERTEILUNG VON GESCHLECHT, ALTER, GEWICHT UND WÖCHENTLICHER DOSIS VON MARCUMAR^R

Behandlung	Anz. Geschlecht der pat.	Geschlecht männlich	Alter Mittelwert	Streuabr. Mittelwert	Gewicht Mittelwert	Streuabr. Mittelwert	wöchentliche Dosis 1-2 3-4 5-6 7u.m. n.s.
Prolixan	8	8	61	45-79	73	65-87	0 1 6 1 0
Prolixan + Gamaquil Kombinat.	9	9	62	53-70	74	47-99	0 1 4 4 0
Prolixan + Propoxyphen Kombinat.	9	9	64	56-71	76	68-92	1 2 6 0 0
Placebo	8	8	57	28-71	79	65-97	0 4 3 0 1

Man erkennt, daß die 4 Versuchsgruppen recht gut vergleichbar sind. Es handelt sich in allen Fällen um Patienten mit Angiopathien.

Die Patienten erschienen alle 14 Tage zu ihren vorgesehenen Untersuchungsterminen. An den Untersuchungstagen wurden jeweils die Medikamenteneinnahme und die Nebenwirkungen dokumentiert und die Blutabnahme vorgenommen. Außerdem wurde nach dem aktuellen Quickwert die Marcumarmedikation falls erforderlich neu dosiert.

ABWEICHUNGEN DES VERSUCHS

Da es sich bei den Versuchspersonen ausnahmslos um ambulante Patienten handelte, kam es in einigen Fällen zu Verstößen gegen die Einnahme der Testmedikation. Teils gaben uns die Patienten selbst an, die Tabletten nicht genommen zu haben, teils überprüften wir die Tablettenmenge nach Beendigung des Versuchs und mußten Fehler feststellen.

Patienten mit schweren Verstößen gegen die Einnahme der Testmedikation sind mit der Begründung für die Abweichung in der Tabelle 2 aufgeführt und - sofern sie schon in den ersten 2 Wochen ausfielen - von der weiteren Auswertung ausgeschlossen worden.

In einigen Fällen gab es weniger gravierende Abweichungen bezüglich der Testmedikation, sie blieben im Versuch.

Tabelle 2

AUSFÄLLE MIT BEGRÜNDUNG

Gruppe	Anz. der Pat.	Anzahl der Ausfälle in den ersten 14 Tagen	Begründung	Rest- Anz. der pat.	Anz. der Ausfälle nach 14 Tagen	Begründung
Prolixan	10	1	Abbruch nach 3 Tagen Kopfweh, Appetitlos	8		
Prolixan + Gamaquil- Kombination	12	1	Abbruch nach 12 Tagen Konaktion, Blutungen			
		1	Abbruch nach 5 Tagen Unwohl, Gliederschm.			
		1	Ausfall wg. Operation	9		
		1	Abbruch nach 1 Tag Magenbeschwerden			
Prolixan		1	Abbruch nach 5 Tagen Magenbeschw., Schwind.	1		Abbruch nach 19 Tagen schwerste Hämatoine, Bltg.
Propoxyphen- Kombination	12	1	nur Hälfte Tabl.eing.	9	1	Abbruch nach 14 Tagen Magenschmerzen, Brechen
		1	Abbruch nach 14 Tagen Ulcus	1		nach 24 Tagen selbst Marcumar abgesetzt
Placebo	8	-	-	8		
Gesamt	42					

Bedenklich für die Interpretation der quantitativen Blutvariablen sind auch Unregelmässigkeiten in der Marcumarmedikation. Diese stehen gerade mit den gemessenen Variablen in Beziehung, so daß ein unmittelbarer Einfluß hier gesehen und bei der Interpretation berücksichtigt werden muß.

Die Marcumarmedikation mußte an jedem Versuchstag nach dem aktuellen Quickwert neu bestimmt werden, da man einerseits den therapeutisch nötigen Bereich erreichen wollte und andererseits den Patienten nicht in den gefährlichen Bereich unter 15% geraten lassen durfte. Der Quickwert wurde im Bereich zwischen 15% und 25% gehalten.

Da das vorzeitige Ausscheiden mit dem Versuchsziel kollidierte, sind die Ausfälle in einer separaten Liste detailliert aufgeführt (Tabelle 2). Aus den Ausfällen sind Rückschlüsse über den Einfluß der Testmedikation zu entnehmen.

Eine gewisse Unstimmigkeit für die spätere Datenanalyse ist zu erwarten, da Ausfälle zum Teil in Folge einer Blutungskomplikation auftraten. Hierdurch konnten nicht alle Patienten für die geplante Versuchsdauer (6 Wochen) berücksichtigt werden. Außerdem mußten Patienten als Ausfälle betrachtet werden, die ihre Testmedikation nicht wie vorgeschrieben genommen hatten. (Tabelle 2)

VERWENDETE METHODEN

Zur Messung der Plättchenaggregation verwendeten wir den Plättchenaggregationstest (PAT) nach BREDDIN und BAUKE (7), für die Bestimmung der Plättchenadhäsivität den Plättchenadhäsivitätsindex (PAI) nach BREDDIN (6), und zur Thrombocytenzählung die Methode von DERLATH (11).

Verwendete Materialien

Plastikeinmalspritzen (20 ml)

Einmalkanülen Nr.1

Polystyrol-Einmal-Zentrifugenbecher

Plastikobjektträger von Firma ASID

Silikonisierte Messkölbchen (20 ml)

Silikonlösung Serva 35130

NA-Citrat 3,8%

NaCl-Na-Citrat-Lösung (1 ml 3,8%Na-Citrat, 9ml 0,9%NaCl)

Formalin 40%

KMnO₄ 1/10 n

Giemsa-Lösung (1/5 verdünnt mit aqua dest. p_H⁵⁻⁶)

Novocain-Lösung 2%

Plättchenaggregationstest nach BREDDIN und BAUKE (7): PAT

Zu 2,0 ml Citrat (3,8%) werden 18,0 ml Venenblut blasenfrei aufgezogen, um eine Läsion der Thrombocyten zu vermeiden. Plättchenreiches Plasma (PRP) wird durch 5-min-langes Zentrifugieren bei 100 Upm gewonnen. In ganz vereinzeltten Fällen mußte wegen der geringen Ausbeute 10 Minuten zentrifugiert werden (im Polystyrol-Einmal-Zentrifugenbecher).

Es werden 1,5 ml vom PRP in ein silikonisiertes Messkölbchen pipettiert, das dann 10 Minuten bei 20 Upm im Wasserbad (37°C) rotiert wird.

Anschließend werden in einem Zentrifugenbecher 4,0 ml NaCl-Citrat zur Verdünnung vorgelegt und der rotierte Inhalt des Kölbchens dazugegeben.

Von dem restlichen nichtrotierten Plasma werden 0,5-0,6ml zu ebenfalls 4,0 ml Na-Cl-Citrat als Vergleichspräparat einpipettiert. Dann werden je ein Plastikobjektträger 30-Minuten-lang mit dem rotierten bzw. nicht rotierten Präparat überschichtet. Die Objektträger werden anschließend in NaCl-Citrat gespült, 5 Minuten in 40% Formalin fixiert und nach vorsichtigem Abspülen in aqua dest. 5 Minuten zur besseren Farbaufnahme in KMnO_4 oxydiert. Danach werden die Präparate eine Stunde in verdünnter Giemsa-Lösung gefärbt. Abschließend spülen wir die Präparate mit Leitungswasser ab und trocknen sie an der Luft.

Auswertung

Sie erfolgt unter dem Lichtmikroskop (Objektiv 16-fach). Die Präparate werden nach der 5-Stufeneinteilung von BREDDIN (5) beurteilt:

Stufe 1: Vor und nach der Rotation zeigen die Thrombocyten das gleiche Bild, überwiegend einzeln liegende Plättchen. Aggregate sind selten.

Stufe 2: Die Präparate zeigen nach der Rotation eine Zunahme der Aggregate, ohne daß eine wesentliche Verminderung der einzeln liegenden Plättchen zu sehen ist.

Stufe 3: Nach der Rotation sehen wir zahlreiche Aggregate. Die Zahl der einzeln liegenden Plättchen ist vermindert.

Stufe 4: Nach der Rotation findet sich eine weitgehende irreversible Aggregation. Die Zahl der einzeln liegenden Plättchen ist stark herabgesetzt.

Stufe 5: Im Rotationspräparat sind fast alle Plättchen irreversibel aggregiert. Nur sehr vereinzelt freie Plättchen kommen vor.

Die Stufen 1 und 2 werden als normal bezeichnet, die Stufen 3 - 5 sind pathologisch, als Ausdruck einer gesteigerten Aggregationstendenz.

Plättchenadhäsivitätsindex nach BREDDIN (6): PAI

Die Blutabnahme und Gewinnung des PRP werden wie beim PAT durchgeführt (siehe oben).

Eine silikonisierte Zählkammer nach BÜRKER wird mit einem Tropfen unverdünntem PRP beschickt, ein Deckglas aufgeschoben und zehn Minuten stehengelassen. Nach 10-minütiger Kontaktzeit wird das Deckglas entfernt, die Kammer schnell 10mal in NaCl-Citrat getaucht, dann 5 Minuten in 40% Formalin fixiert und nach vorsichtigem Spülen in aqua dest. an der Luft getrocknet.

Die Auswertung erfolgt unter dem Phasenkontrastmikroskop (Objekt 40-fach), es werden je zwei Balken zu $1/20 \text{ mm}^2$ ausgezählt.

Berechnung des PAI nach folgender Formel:

$$\text{PAI} = \frac{\text{Adhäsive Plättchen/mm}^2 \text{ (BÜRKER-Kammer)}}{\text{Zahl der Plättchen/mm}^3 \text{ (NEUBAUER-Kammer)}}$$

Thrombocytenzählung nach DERLATH (11)

In einer Leukopipette wird PRP bis zur Marke 9,5 aufgezogen, dann 2% Novocain-Lösung bis zur Marke 11 nachgezogen. Durch Drehen der Pipette um ihre Längsachse, dabei darf nicht geschüttelt werden, wird das Ganze vermischt. Die ersten drei Tropfen werden verworfen, mit den folgenden eine NEUBAUER-Zählkammer beschickt. Einige Minuten ruhen lassen. Im Phasenkontrastmikroskop werden 5 große Felder zu 16 Kleinquadraten ausgezählt. Diese Gesamtzahl mal 1000 ergibt die Zahl der Plättchen in 1mm^3 PRP. Im Citratplasma sind die Plättchen gegenüber Vollblut relativ angereichert. Die Werte liegen durchschnittlich über den Vollblutwerten und unterliegen auch größeren Schwankungen (Normalwerte nach BREDDIN 200.000-600.000/ mm^3).

ERGEBNISSE

EIGENE ERGEBNISSE

Der Plättchenaggregationstest (PAT)

Der PAT ergab bei keiner der 4 Gruppen eine signifikante Veränderung. Die Unterschiede bewegen sich im Bereich des Zufalls, wobei aber zu berücksichtigen ist, daß bei derart kleinen Patientenzahlen selbst größere Unterschiede zwischen den Häufigkeiten noch als statistisch unauffällig bezeichnet werden müssen.

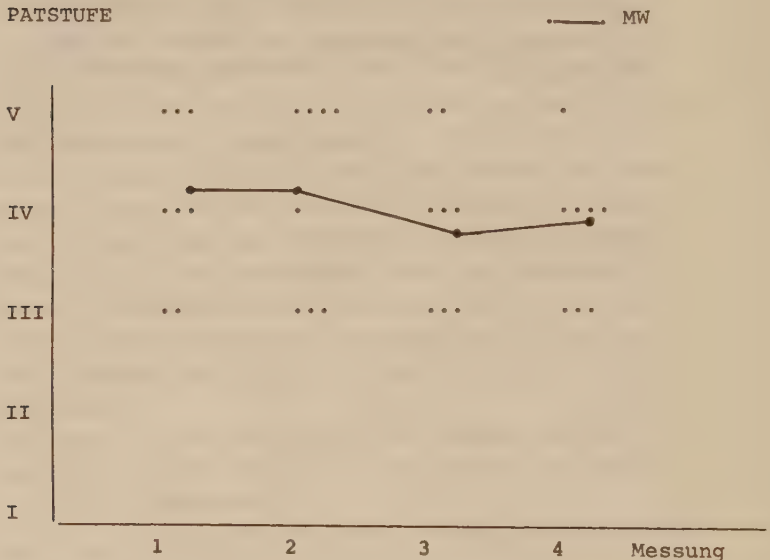


Abb.1: PAT Gruppe A

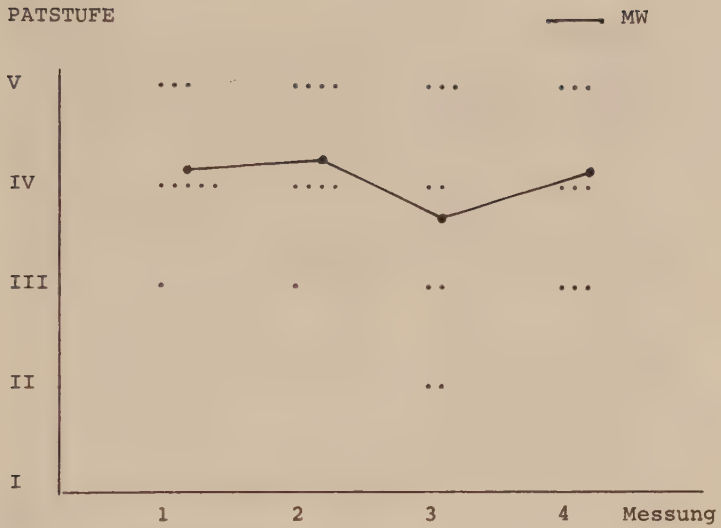


Abb.2: PAT Gruppe B

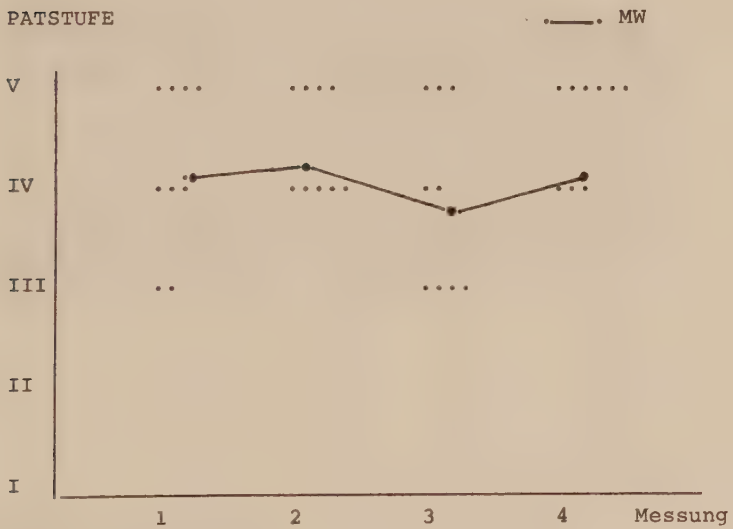


Abb.3: PAT Gruppe C

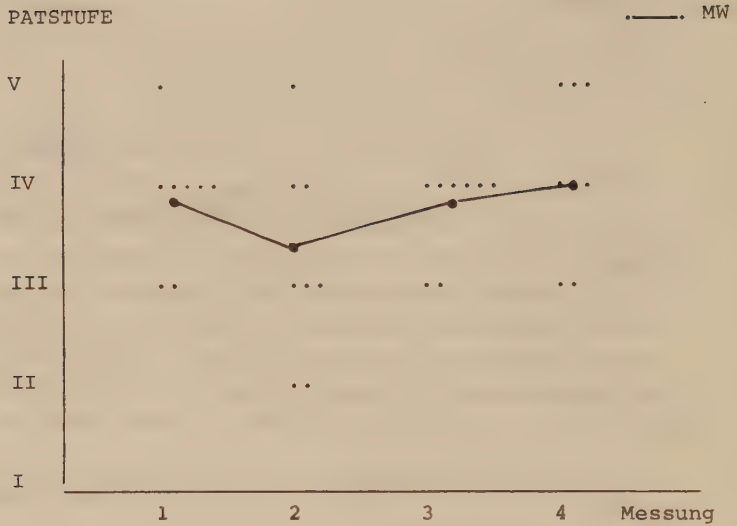


Abb.4: PAT Gruppe D

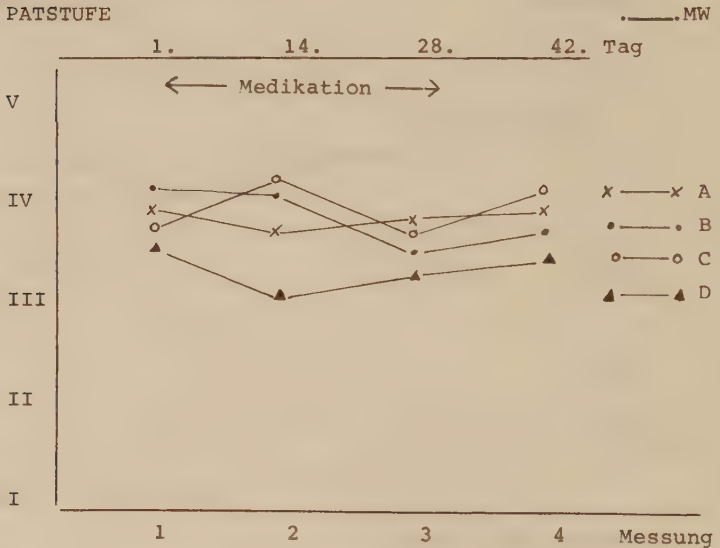


Abb.5: Mittelwerte des PAT der 4 Gruppen A,B,C,D

Die Gruppe A zeigte Mittelwerte des PAT, die sich während der 4 Messungen alle im Bereich von Stufe IV bewegen und damit im pathologischen Gebiet einer gesteigerten Aggregationstendenz liegen.

Bei den Patientengruppen B und C waren die Mittelwerte des PAT von Anfang an im Bereich von Stufe IV und V. Während der Testmedikation gingen die Werte etwas zurück und stiegen nach Absetzen von Prolixan^R zum Ausgangswert an.

Bei der Gruppe D befanden sich die Mittelwerte niedriger als bei den vorhergehenden Gruppen, sie liegen zwischen Stufe III und IV. Bei der 2. Messung lag der Mittelwert an der allerobersten Normgrenze, stieg jedoch wieder zum Ausgangswert an.

Der Plättchenadhäsivitätsindex (PAI)

Die Plättchenadhäsivität nahm in der Gruppe A bei allen 5 Messungen nicht signifikant zu und bewegte sich immer im Normbereich. Im Einzelnen ergab sich bei der Nullwertkontrolle ein Mittelwert $\bar{x} = 0,79$. Der Normbereich liegt nach BREDDIN zwischen 0,5 und 1,5. Es fiel eine Steigerung von der 1. zur 2. Messung auf, ebenso die weitere Zunahme nach Absetzen von Prolixan^R von der 4. zur 5. Messung.

Pat.	I	II	III	IV
1	1,008	0,54	0,95	1,008
2	0,286	0,50	0,62	1,66
3	0,32	1,09	0,92	0,87
4	0,69	0,79	0,29	0,55
5	0,93	0,39	0,39	1,16
6	0,92	0,32	0,46	0,50
7	0,50	0,1	0,51	0,72
8	0,83	1,40	0,35	0,59
$\bar{x}$	0,69	0,77	0,69	1,02

Tab.3: Einzelwerte, Mittelwerte ($\bar{x}$) des PAI der Gruppe A

Bei der Gruppe B bewegte sich der Mittelwert $\bar{x} = 0,84$ ebenfalls im Normbereich. Die Steigerung von der 1. zur 2.Messung wie die Abnahme nach Absetzen der Testmedikation fielen jedoch kaum auf, Signifikanzen waren nicht zu erkennen.

Pat.	I	II	III	IV
1	0,7	0,8	0,5	1,1
2	0,3	0,7	0,5	0,6
3	0,9	0,9	0,8	0,9
4	0,44	0,6	0,97	0,82
5	1,1	1,5	1,22	0,55
6	0,71	1,03	0,71	0,89
7	0,66	0,89	0,89	1,31
8	1,31	0,43	1,14	1,1
9	0,21	1,00	0,7	0,8
$\bar{x}$	0,70	0,87	0,83	0,89

Tab.4: Einzelwerte, Mittelwerte ($\bar{x}$) des PAI der Gruppe B

Bei der Gruppe C verhielt sich der PAI ähnlich wie bei Gruppe B. Die Mittelwerte befanden sich im Normbereich. Keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Messungen.

Pat.	I	II	III	IV
1	1,211	0,79	1,08	0,62
2	0,906	1,1	1,35	0,80
3	0,79	0,89	0,99	0,92
4	0,65	1,99	0,59	0,89
5	1,00	1,55	0,55	0,63
6	1,16	1,17	1,21	1,04
7	1,16	0,89	1,302	1,05
8	0,96	0,91	0,69	0,95
9	0,82	0,97	0,803	nn
$\bar{x}$	0,96	1,14	0,95	0,77

Tab.5: Einzelwerte, Mittelwerte ($\bar{x}$) des PAI der Gruppe C

Der PAI der Gruppe D entsprach auch den Normverhältnissen. Der Ausgangswert lag höher als bei den anderen Gruppen, es zeigte sich auch keine signifikante Änderung.

Pat.	I	II	III	IV
1	0,99	0,49	0,35	0,708
2	2,063	0,96	1,78	1,28
3	0,32	0,94	0,64	0,61
4	0,96	1,16	0,56	1,04
5	0,97	1,03	0,71	0,89
6	1,91	0,68	0,81	0,63
7	1,16	0,97	0,84	0,92
8	1,5	0,802	0,95	0,92
$\bar{x}$	1,23	0,88	0,83	0,88

Tab.6: Einzelwerte, Mittelwerte ($\bar{x}$) des PAI der Gruppe D

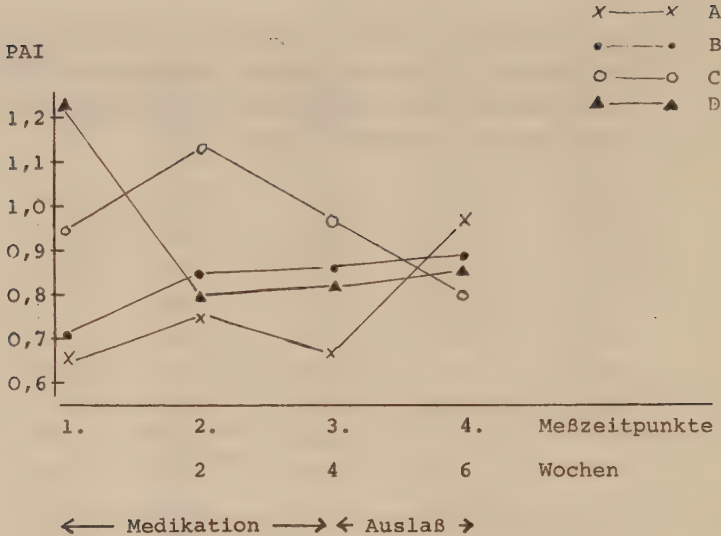


Abb.6: Mittelwerte des PAI aller 4 Gruppen

Thrombocyten

Der Anstieg der Thrombocytenzahlen bei der 3.Messung (nach 14-tägiger Medikationseinnahme) war bei allen Gruppen sichtbar, signifikant jedoch in keiner Gruppe.

In der Gruppe A stiegen die Thrombocytenzahlen während der Medikation an und sanken 14 Tage nach Medikationsende im Auslassversuch in Richtung der Ausgangswerte wieder ab.

Pat.	I	II	III	IV
1	205	475	336	551
2	440	399	436	418
3	742	408	450	508
4	349	601	470	723
5	344	199	434	459
6	471	311	652	470
7	518	495	792	555
8	301	172	563	272
$\bar{x}$	421	383	516	494

Tab.7: Einzelwerte, Mittelwerte ($\bar{x}$) der Thrombozytenzahlen bei der Gruppe zum Zeitpunkt der 4 Messungen

Die Gruppen B und C verhalten sich ähnlich, die Thrombocytenzahlen steigen während der Medikation (2. und 3.Messung) und auch nach Absetzen von Prolixan weiter an.

Bei der Gruppe D ist ein ständiger Anstieg der Thrombocytenzahlen zu verzeichnen. Ein Absinken in der 1.Hälfte während der Medikation (2.Messung) wie bei allen anderen Gruppen ist nicht zu beobachten.

Pat.	I	II	III	IV
1	520	399	337	615
2	643	394	619	602
3	417	336	402	630
4	447	187	343	468
5	254	270	466	485
6	481	329	551	621
7	478	391	446	201
8	348	450	253	482
9	736	569	420	400
$\bar{x}$	480	369	426	500

Tab.8: Einzelwerte, Mittelwerte ($\bar{x}$) der Thrombocytenzahlen bei der Gruppe B zum Zeitpunkt der 4 Messungen

Pat.	I	II	III	IV
1	334	336	376	609
2	331	427	294	438
3	429	323	443	372
4	426	248	455	476
5	298	209	523	552
6	560	355	505	550
7	332	569	403	482
8	358	300	435	510
9	437	307	510	nn
$\bar{x}$	389	341	438	523

Tab.9: Einzelwerte, Mittelwerte ($\bar{x}$) der Thrombocytenzahlen bei der Gruppe C zum Zeitpunkt der 4 Messungen

Pat	I	II	III	IV
1	212	486	526	569
2	308	397	201	408
3	473	407	530	839
4	287	288	406	340
5	323	240	649	336
6	236	650	601	569
7	315	450	604	427
8	437	558	477	625
$\bar{x}$	323	422	499	514

Tab.10: Einzelwerte, Mittelwerte ($\bar{x}$) der Thrombocytenzahlen bei der Gruppe D zum Zeitpunkt der 4 Messungen

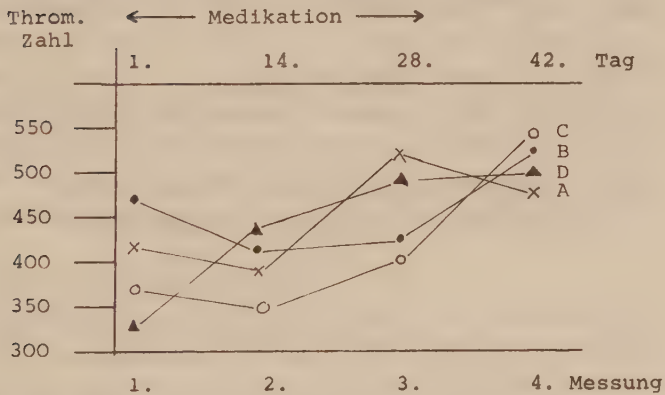


Abb.7: Mittelwerte der Thrombocytenzahlen der 4 Gruppen A,B,C,D

Thromb.z.

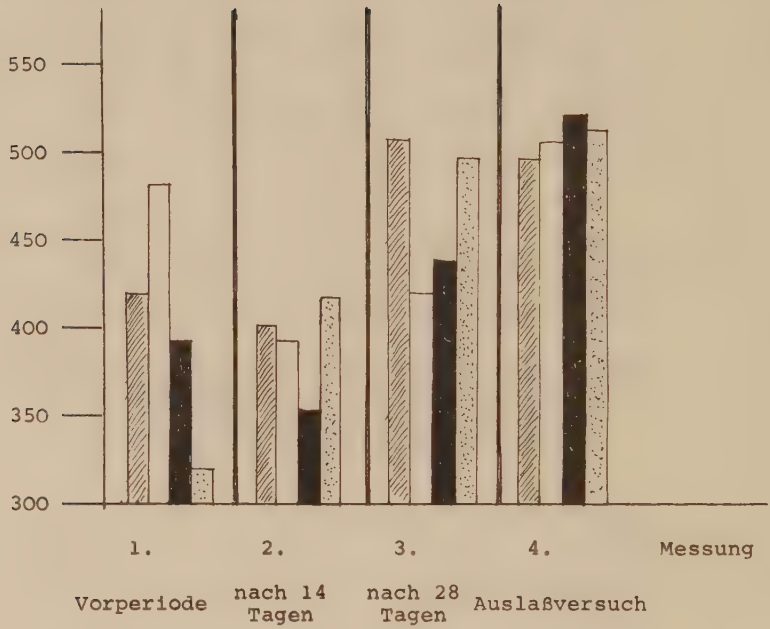
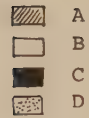


Abb.8: graph.Darstellung der Mittelwerte der Thrombocytenzahlen der Gruppen A,B,C,D

STATISTIK

Während des Testes waren folgende Beobachtungen zu machen, die Rückschlüsse auf die Testmedikation zulassen.

1. Ausfälle von Patienten während des Versuches infolge von sogenannten "schweren" Blutungen und anderen Ursachen.
2. Patienten mit beobachteter Blutungsneigung, die allerdings im Versuch bleiben konnten, sogenannte "leichte" Blutungen.
3. Patienten, bei denen während des Versuchs die Marcumardosis reduziert werden mußte wegen Verlassens des therapeutischen Bereichs in Richtung Blutungsneigung.
4. Änderungen der Messwerte.

Zu bemerken ist, daß die Beobachtungen 1 und 3 vermutlich nicht ohne Einfluß auf die Beobachtungen 2 und 4 sind. Es gibt derzeit jedoch noch keine Methode, diesen verändernden Einfluß auf den Versuch auszugleichen. Man sollte sich also bewußt sein, daß zur richtigen Auswertung des Versuchs sämtliche Beobachtungen gleichzeitig betrachtet werden müssen.

Ausfälle der Patienten (1)

Eine Übersicht über die Ausfälle ist in Tabelle 2 (S.8) dargestellt. In der Prolixangruppe (A) waren es 2 Fälle, in der Prolixan-Gamaquil-Gruppe (B) und in der Prolixan-Propoxyphengruppe (C) 3 Fälle von Patienten, die in den ersten 14 Tagen ausfielen.

Anschließend schieden noch 3 weitere Patienten in der Prolixan-Propoxyphen-Gruppe aus. Die Ausfälle hängen nur zum Teil mit Blutungen zusammen. Ein Unterschied zur Placebogruppe ist nicht festzustellen, dafür sind die Gesamthäufigkeiten zu gering.

Blutungsneigung (2)

Ergebnisse des Versuchs, die mit einer leichten Blutungsneigung zusammenhängen, sind in Tabelle 12 (S.27) aufgeführt.

Reduzierung der Marcumardosis (3)

Als einfache Übersicht wurde die Häufigkeit der Patienten ermittelt, bei denen in den ersten vier Wochen während der Testmedikation die Marcumardosis reduziert werden mußte.

Tabelle 11

Behandlungs- Gruppe	Restzahl der Patienten nach Ausfällen	Patienten mit Reduktion
A	8	2
B	9	3
C	8	4
D	8	0

Obwohl sich auch hier der Eindruck aufdrängt, daß sich an Hand der Häufigkeiten die Bahandlungsgruppen von der Placebo-Gruppe unterscheiden, verfehlt ein statistischer Test knapp die konventionelle 5%-Schranke ($0.10 \geq P \geq 0.05$, Fishers genaue Wahrscheinlichkeit).

Tabelle 12

Gruppe	Gesamtanzahl der Patienten	Anzahl Pat. mit leichten Blutungen	Begründung
Prolixan	10	1	In der 2.Meßperiode mehrmals Nasenbluten
		1	Blutungen in Nase u. Stuhl i.d.1.Meßper.
Prolixan Gamaquil Kombination	12	1	Massives Nasenbluten i.d. Nachperiode
Prolixan Propoxyphen Kombination	12	1	Massives Nasenbluten i.d.2.Meßperiode
		1	Blutungen in der 1.Meßperiode
Placebo	8	-	-

Meßwerte (4)

Für Daten mit genügendem Informationsgehalt wurden Mittelwerte berechnet. Ferner wurde mittels Kovarianzanalyse getestet, ob sich die 4 Versuchsgruppen voneinander unterscheiden, wobei etwaige Unterschiede bezüglich der Ausgangslage durch Einbezug der Werte dieses Zeitpunktes als Kovariante ausgeglichen wurden. Bei einem ersten Analysengang wurden noch einige Ausreißer durch graphische Analyse festgestellt. Diese wurden für den zweiten Analysengang - ebenfalls wie die gelegentlich fehlenden Werte - durch den im 1. Rechengang ermittelten "vorhergesagten" Wert ersetzt.

Unterschiede zwischen den drei Behandlungsgruppen konnten statistisch nicht gesichert werden. Dies mag natürlich an der großen Fehlerbreite der Messungen bzw. an der geringen Zahl von Patienten liegen.

Mittelwerte der zwei (ausreisserkorrigierten) Variablen findet man in Tabelle 13.

Tabelle 13

Gruppe	Anz.d.Pat.	Messungen zu den 4 Zeitpunkten			
		$\bar{x}$ 1	$\bar{x}$ 2	$\bar{x}$ 3	$\bar{x}$ 4
Thrombocytenzahlen					
1	8	421250	383000	516630	494380
2	9	480440	369440	426330	500560
3	9	389440	341560	438220	523500
4	8	323750	422000	499250	514130
Plättchenadhäsionsindex					
1	8	0.69	0.77	0.69	1.02
2	9	0.70	0.87	0.83	0.89
3	9	0.96	1.14	0.95	0.77
4	8	1.23	0.88	0.83	0.88

Nebenwirkungen der Testmedikation

(mit Ausnahme von Blutungen)

Die Nebenwirkungen der Testmedikation, die nicht die Blutungen betreffen, sind in Tabelle 14 aufgeführt. In den meisten Fällen, in denen Nebenwirkungen beobachtet worden waren, wurden noch andere Medikamente genommen. So ist nicht zu entscheiden, ob die beobachteten Erscheinungen auf die Test-Medikation zurückgehen. Auffällig ist die höhere Zahl der Patienten in den drei Gruppen mit der Testmedikation, jedoch ist der Unterschied wegen der geringen Gesamtzahl der Patienten statistisch kaum abzusichern.

Tabelle 14

Gruppe	Gesamt- Anzahl d.Pat.	N e b e n w i r k u n g e n
A	10	1. Unwohlsein, 3 Tage ausgesetzt 2. Flecken im Gesicht 3. Starke Müdigkeit, Schwindel 4. Appetitlosigkeit
B	12	1. Unwohlsein, Gliederschmerzen 2. Schwindel 3. Magenbeschwerden 4. Druck und Völlegefühl
C	12	1. Magenbeschwerden, Schwindel 2. Appetitlosigkeit 3. Ausschlag, Beinschmerzen, Hochdruck 4. Magenschm., Brechreiz, Völlegefühl 5. Magenbeschwerden
D	8	1. Magenbeschwerden

D I S K U S S I O N

Die Versuchsergebnisse zeigten keine signifikanten Veränderungen der verwendeten Thrombocytenteste. Azapropazon und die untersuchten Kombinationen mit Azapropazon scheinen demnach keine bemerkenswerten Einflüsse auf das Thrombocyten-system bei Anwendung von therapeutischen Dosen zu haben.

Unsere Beobachtungen eines erhöhten PAT bei Patienten mit obliterierenden Angiopathien bereits vor Beginn der Medikation, bestätigen die Ergebnisse von BREDDIN und BAUKE (7), die bei 92% ihrer Patienten pathologische PAT-Stufen fanden. BREDDIN (5, 1968) konnte eine Altersabhängigkeit des PAT feststellen, insofern die Werte mit wachsendem Alter zunehmen.

Unsere Ergebnisse hinsichtlich des Plättchenadhäsionsindex (PAI) decken sich mit den Resultaten von BREDDIN (6), der bei Patienten unter Antikoagulantientherapie auch stets einen normalen PAI fand. Da BREDDIN angibt, daß seine Methode zur Feststellung einer gesteigerten Adhäsivität vorläufig keine sicheren Ergebnisse bringt, sind unsere Befunde, die mit der gleichen Methode durchgeführt werden, in dieser Richtung mit Vorbehalt zu beurteilen.

Die beobachteten Blutungen sind nicht auf eine Änderung der Thrombocyten-Funktion zurückzuführen. Die leichten Blutungszwischenfälle (vorwiegend Nasenbluten) führten nicht zum Abbruch der Medikation. Zwei sogenannte schwere Blutungen zwangen zum Absetzen der Präparate.

Wir glauben, daß die leichten wie auch schweren Blutungszwischenfälle nur über die bekannten Phenprocoumoneffekte zu erklären sind. In erster Linie weisen wir damit auf die Verminderung der Vitamin K-abhängigen Faktoren hin, hauptsächlich Faktor II (Prothrombin), Faktor V (Proaccelerin), Faktor VII (Proconvertin), Faktor IX (Christmas-factor), Faktor X (Stuart Prower-factor).

Diese Phenprocoumonwirkung wurde durch die untersuchten Präparate verstärkt, wie von anderen an dieser Studie beteiligten Untersuchern festgestellt wurde (33).

Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Wirkung des antirheumatischen Azapropazon (Prolixan^R) auf den Thrombozytenstoffwechsel und die Blutgerinnung bei Patienten unter Phenprocoumon-dauertherapie (Marcumar^R) wurde untersucht. Verschiedene Methoden zur Bestimmung der Thrombocytenzahl und -funktion werden angeführt. Die Begriffe "Adhäsion" und "Aggregation" sowie der Einfluß verschiedener Substanzen hierauf werden erläutert.

42 Phenprocoumon-Patienten wurden in vier sich in der Medikation unterscheidende Gruppen eingeteilt:

- A: Patienten mit Azapropazon (Prolixan^R).
- B: Patienten mit einer Azapropazon-Phenprobamat (Gammaquil^R) Kombination.
- C: Patienten mit einer Azapropazon-d-propoxyphen Kombination.
- D: Patienten mit Placebomedikation.

Alle Patienten hatten obliterierende Angiopathien.

Wir untersuchten die Thrombocytenfunktion mit dem Plättchenadhäsionsindex und Plättchenaggregationstest nach BREDDIN (5), die Thrombocytenzählung nach DERLATH (11).

Beim Plättchenaggregationstest (PAT) wurden bei keiner Gruppe signifikante Veränderungen während des Untersuchungszeitraums von sechs Wochen, davon vier Wochen Medikation, gefunden. Der Ausgangswert lag bei allen Patienten schon vor der Medikation im pathologischen Bereich (Stufe III bis IV), wie es von obliterierenden Angiopathien bekannt ist.

Der Mittelwert des Plättchenadhäsionsindex (PAI) lag bei allen Gruppen im Bereich der Norm (0,5 bis 1,5). Signifikanzen waren nicht zu erkennen.

Bei den Thrombocytenzahlen waren bei den 4 Versuchsgruppen die Werte im Normbereich. Ein gewisser kleiner Anstieg nach 14-tägiger Medikation erwies sich bei allen Gruppen als nicht signifikant.

Bei allen Patientengruppen außer der Placebogruppe wurden einige leichte Blutungen, aber auch zwei schwere Blutungen beobachtet. Diese machten den Abbruch der Medikation notwendig.

Jedoch glauben wir aufgrund unserer Untersuchungen nicht, daß diese Blutungen auf Änderung der Thrombocytenfunktion und -zahl zurückzuführen sind.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BOLTON C.H., J.R. HAMPTON, J.R.A. MITCHELL
"Nature of the transferable factor which
causes abnormal platelet behaviour in
vascular disease"
Lancet II: 1101 (1967)
2. BORCHGREVINK C.F.
"Platelet adhesion in vivo during
secondary bleeding in normal individuals
and in patients with clotting defects"
Acta med.scand. 170; I (1961a)
3. BORN G.V.R. "Aggregation of blood platelets by
adenosine diphosphate and its reversal"
Nature 194: 972 (1962)
4. BOUNAMEAUX Y. "2.L'accelemt des plaquettes aux
fibres sous-endothéliales"
Thromb.Diath.Haem. 6:504 (1961)
5. BREDDIN K. "Die Thrombozytenfunktion bei hämorr-
hagischen Diathesen, Thrombosen und
Gefäßkrankheiten"
Schattauer-Verlag, Stuttgart 1968
6. BREDDIN K. "Zur Messung der Thrombozytenadhäsivi-
tät" Thromb.Diath.Haem. 12:269 (1964)
7. BREDDIN K. und J. BAUKE
"Thrombozytenagglutination und Gefäß-
krankheiten" Blut 11:144 (1965)
8. CARSON P., L. McDONALD, S.PICKARD, B.DAVIS, F.LOVE
"Effect of Atromid in Platelet Sticki-
ness" J. Atheroscler.Res. 3:619 (1963)

9. CLAYTON S., G.V.R. BORN, M.J. CROSS
"Inhibition of the aggregation of blood
platelets by nucleosides"
Nature 200:138 (1963)
10. CROSS M.J., G.V.R. BORN, S. CLAYTON
"Twelfth annual symposium on blood:
The aggregation on platelets by adenosine
diphosphate"
Thromb.Diath.Haem. II:301 (1964)
11. DERLATH S. "Die direkte phasenoptische Thrombozyten-
und Retikulozyten-Zählung" zit.in 5, S.13
12. FONIO A. "Zytologie und Physiologie der Thrombo-
zyten", in HEILMEYER L.U., A.HITTMAIR
Handbuch der gesamten Hämatologie I.Band
I.Teil 313, Urban und Schwarzenberg Verlag
München/Berlin 1957
13. FRANDOLI G., A.GIBELLI, P. GIAROLA
"Increase of fibrinolytic activity and
reduction of platelet stickiness by pro-
longed treatment with Atromid-S"
Clin.terap. 38, 1:27 (1966)
14. FRIEDMAN M., S.O. BYERS
"Experimental thromboatherosclerosis"
J.clin.Invest. 40:1139 (1961)
15. GAARDER A., S. LALAND
"Hypothesis for the aggregation of plate-
lets by nucleotides"
Nature 202:9 (1964)
16. GARVIN J.E. "Factors affecting the adhesiveness of
human leucocytes and platelets in vitro"
J.exper.Med. 114:51 (1961)

17. GILBERT J.B. J.F. MUSTARD
"Some effects of Atromid on platelet economy and blood coagulation in man"
J.Atheroscle.Res. 3:623 (1963)
18. HARTERT H., zit. bei JÜRGENS, F.K. BELLER
"Klinische Methoden der Blutgerinnungs-analyse"
S.141 Thieme-Verlag, Stuttgart 1959
19. HELLEM A.J. "The influence of Adenosine Diphosphate on platelet adhesiveness in vitro"
Vasc.Symposium on biological aspects of occlusive vascular disease, Cambridge 1962
20. HELLEM A.J. "The adhesiveness of human blood platelets in vitro"
Scand.J.clin.Lab.Invest.Suppl.51:1 (1960)
21. HORLICK L. "The adhesive index, a measure of platelet stickiness". In "Anticoagulants and Fibrinolysins". International Symposium Ontario Heart Foundation and University of Toronto 56 (1961)
22. LEEKSMA C.H., J.A. COHEN
"Determination of the lifespan of human blood platelets using labelling di-isopropylfluorophosphonate" J.clin.Invest. 35:964 (1956)
23. MASCHOUF, C., R.W. ROBINSON, P.J. LEBEAU
"Evaluation of nialamide on the coagulation of blood"
Introduction of a new technic for measuring adhesiveness of platelets"
Blood 24:289 (1964)

24. MITCHELL J.R.A., A.A. SHARP
"Platelet clumping in vitro"
Brit.J.Haem. 10:78 (1964)
25. MURPHY E.A., J.F. MUSTARD
"Coagulation tests and platelet economy
in atherosclerotic and control subjects"
Circulation 25:114 (1962)
26. MUSTARD J.F., H.G. DOWNIE, E.A. MURPHY, H.C. ROWSELL
"Lipids, platelets and atherosclerosis".
Blood platelets Henry Ford Hosp.Internat.
Symp.Little Brown and Co.,
Boston 191 (1961)
27. O'BRIEN, J.R. "The adhesiveness of native platelets
and its prevention"
J.clin.Path. 14:140 (1961)
28. O'BRIEN J.R., J.B. HEYWOOD, J.A. HEADY
"The quantitation of platelet aggregation
induced by four compounds". A study in
relation to myocardial infarction.
Thromb.diath.Haem. 16:752 (1966)
29. ROVATTI B. "Indice d'adhésivité et agglutinogramme
des plaquettes"
Nouvelles Epreuves pour l'étude des
affections. Haem.Thromb.Sang 22:454 (1951)
30. SALZMANN E.W. "Measurement of platelet adhesiveness"
J.Lab.clin.Med. 62:724 (1963)
31. SHARP A.A. "Viscous metamorphosis of blood platelets:
A study of the relationship to coagulation
factors and fibrin formation" Brit.J.Haem.
4:28 (1958)
32. SWANK R.L. "Adhesiveness of platelets and leucocytes
during acute exsanguination" Amer.J.
Physiol. 202:261 (1962)

33. GOOSSENS N. "The effect of antiinflammatory drugs on the blood coagulation system" in:
Sonderdruck aus:
Selected Therapeutic Problems in Rheumatoid Arthritis, International Symposium Geneva, S.12-20, November 1973
Urban und Schwarzenberg, München (1974)

Herrn Prof. Dr. med. N.Goossens möchte ich danken für die Überlassung des Themas, für seine Ratschläge und für seine Hilfe.

Mein Dank gilt auch der technischen Assistentin Frau Wimmer für die freundliche Unterstützung während der Arbeit.

L E B E N S L A U F

Am 16. Dezember 1949 wurde ich, Cornelia Neppert, als Tochter des Röntgenologen Dr.med.B.Neppert und seiner Ehefrau Dr.med. Annemarie, geb.Fuchs, Kinderärztin, in Tübingen geboren. Nach meinem Abitur 1969 am Neusprachlichen Gymnasium Geislingen an der Steige studierte ich ein Semester Biologie und Chemie an der Universität Tübingen und erhielt dort auch die Zulassung zum Medizinstudium im Sommersemester 1970. Nach erfolgreich bestandenem Vorphysikum und Physikum wechselte ich 1972 über zur Universität München. Während des klinischen Studiums famulierte ich an der Medizinischen Poliklinik und der 1.Frauenklinik der Universität München sowie an verschiedenen Kliniken im Ausland.

